Über die
brom- und jodwasserstoffsauren Salze
der
Glutinpeptone.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medicinischen Doctorwürde
der
hohen medicinischen Facultät
der
kgl. bayer. Friedrich-Alexanders-Universität zu Erlangen
im Juli 1895
vorgelegt von

Friedrich Schwarz
aus Reichenhall.

Tag der mündlichen Prüfung: 23. Juli 1895.

Erlangen 1896.
K. b. Hofbuchdruckerei von Aug. Vollrath.

Gedruckt mit Genehmigung der medicinischen Facultät Erlangen.

Referent: Prof. Dr. Rosenthal.

Dekan: Prof. Dr. v. Strümpell.

Tag der Promotionsprüfung: 23. Juli 1895.

Herrn Dr. med. Julius Loeb

in

aufrichtiger Dankbarkeit.

(Der experimentelle Teil dieser Arbeit wurde im Privatlaboratorium des Herrn Prof. Dr. C. Paal während der letzten drei Semester ausgeführt).

Der Leim hat seit den Zeiten des Dionys Papin in der Auffassung seiner physiologischen Bedeutung als Nahrungsstoff die mannigfachsten und verschiedensten Wandlungen erfahren und es ist wohl für die Beurteilung des Widerstreits der im Laufe der Zeit sich bildenden Meinungen nichts bezeichnender, als dass sich die medicinische Akademie zu Paris in der ersten Hälfte dieses Jahrhunderts zweimal veranlasst sah, eine eigene Gelatinecommission[1]) zur Entscheidung über die Frage des Nährwerts der leimgebenden Stoffe einzuberufen. Erst den exacten Arbeiten Bischoffs, Pettenkofers und Voits[2]) und seiner Schüler ist es gelungen, den Collagenen in der Reihe der Nahrungsstoffe endgültig ihren Platz anzuweisen mit dem Resumé[3]), „dass der Leim, wenn er mit der Ernährungsflüssigkeit durch die Gewebe geht, zersetzt wird und zwar leichter als das Eiweiss, wodurch er letzteres vor der Zersetzung schützt. Der Leim erspart Eiweiss in viel höherem Grade als das Fett und die Kohlehydrate und er wird in dieser Beziehung nur vom (Eiweiss-)Pepton übertroffen. Durch

---

[1]) S. Voit in Hermanns Hdbch. d. Phys. Bd. VI, 1.

[2]) Bischoff und Voit, die Gesetze von d. Ernährung des Fleischfressers 1860. Voit, Ztschr. f. Biologie Bd. I, 1865; II, 1866; IV, 1868; V, 1869; VIII, 1872; X, 1874.

[3]) Voit, in Hermanns Hdbch. d. Phys. VI, 1 p. 122—127.

grössere Gaben von Leim neben Fett oder Kohlehydraten wird der Eiweissumsatz im Körper herabgesetzt, nie aber ist es möglich, durch Leim den Körper vor jeglichem Eiweissverlust zu bewahren, stets wird von ihm noch etwas Stickstoff oder Eiweiss abgegeben. Der geringe Eiweissverlust nach Aufnahme grosser Leimmengen rührt wahrscheinlich von den zerstörten Blutkörperchen und den abgestossenen Epidermisgebilden her. Es kann demnach der Leim einen beträchtlichen Teil des Eiweisses ersetzen, aber nicht in Eiweiss übergehen und nicht organisierte Formen bilden; die gesamte Menge des gegebenen Leimes wird rasch zersetzt. Es muss deshalb stets zu dem Leim eine geringe Menge von Eiweiss hinzugesetzt werden, um den Eiweissbestand des Körpers zu erhalten. Ausserdem wird bei grösseren Gaben von Leim etwas weniger Fett verbrannt; seine Wirkung in dieser Beziehung ist jedoch keine erhebliche, sie ist wesentlich geringer wie die der stickstofffreien Stoffe. Man kann nicht so grosse Mengen von Leim geben, um den Fettverlust vom Körper aufzuheben; man muss zu diesem Zwecke immer stickstofffreie Stoffe hinzufügen. Darnach ist also der Leim allerdings keine Nahrung, wohl aber ein höchst wertvoller Nahrungsstoff, der bei der Ernährung des Fleischfressers eine nicht unbedeutende Rolle spielt."

Nachdem so die ernährende Bedeutung des Leimes bedingungslos erwiesen war, konnte es bei dem damals schon so regen Interesse an den Schicksalen der Eiweisskörper während der digestiven Einwirkung der Verdauungssäfte und dem nicht minder lebhaften Drang nach der Erkenntnis ihrer Constitution, nicht ausbleiben, dass auch die digestive Metamorphose des Collagens als eines der echten Eiweisskörpern nahestehenden Stoffes eingehenderer Untersuchungen gewürdigt wurde. Speciell über das Verdauungsproblem des Leims wurde zur Zeit der Fütterungsversuche Voit's schon mehrfach gearbeitet,

so von Meissner[1]), Kühne[2]), Metzler[3]), Schweder[4]); später waren es besonders Gaethgens[5]), Hofmeister[6]), Horbaczewski[7]) und Tartarinoff[8]), welche dieser Frage näher getreten sind. Allein erst nachdem die Ergebnisse der bis jetzt auf diesem Gebiete hervorragendsten Arbeiten Kühne's der Eiweisschemie überhaupt eine sichere Grundlage geschaffen und ein System gegeben, konnte man mit berechtigteren Hoffnungen ein Feld bebauen, über dessen Verhältnisse bisher nur mehr dunkle Vorstellungen geherrscht hatten.

Spallanzani[9]) war der erste, der mit künstlichen Verdauungsversuchen arbeitete. Obwohl unmittelbar nach ihm die für alle Zeiten fundamentale Entdeckung Lavoisier's eigentlich Anregung genug geboten hätte, wurden derartige Versuche erst wieder nach längerer Pause von Tiedemann und Gmelin[10]) aufgenommen. Jene Periode, die von dem Geiste eines Wöhler und Liebig beherrscht war und eine Wissenschaft gebar, die, wie Gorup-Besanez[11]) sich ausdrückte, ihrem Zwecke nach Physiologie, ihren Mitteln nach Chemie, sich zur Aufgabe stellt, gewisse Lebensvorgänge, die auf

---

[1]) Untersuchungen über die Verdauung der Eiweisskörper. Ztschr. f. ration. Medicin R. III, 7, 8, 10, 12, 14.

[2]) Lehrb. d. phys. Chemie. Leipzig 1868.

[3]) Beiträge z. Lehre von d. Verdauung des Leims. Ing.-Dissert. Giessen 1860.

[4]) Zur Kenntnis d. Glutinverdauung. Ing.-Diss. Berlin 1867.

[5]) Zur Kenntnis d. Leims, Ztschr. f. phys. Chemie. Bd. I. 1877.

[6]) Über d. chem. Struktur d. Collagens, Ztschr. f. phys. Chemie. Bd. 2. 1879.

[7]) Sitzungsberichte d. Wiener Akademie II. Abt. 1879, 1885. Über die dch. Einwirkung von Salzsäure aus den Albuminoïden entstehenden Zersetzungsproducte.

[8]) Jahresberichte d. Chemie 1879.

[9]) Expériences sur la digestion.

[10]) Die Verdauung nach Versuchen. Heidelberg 1831.

[11]) Lehrbuch d. physiolog. Chemie 1874. pag. 7.

Mischungsänderungen des Stoffes beruhen, aus chemischen Gesetzen zu erklären — nämlich die physiologische Chemie — jene Periode stand bereits auf positivem Boden und brachte auch nennenswerte Fortschritte in diesen heute noch unser intimstes Interesse berührenden Fragen. Während Bidder und Schmidt[1]) im Gegensatz zu Gmelin nur die Salzsäure und keine andere Säure als wesentlichen Bestandteil des Magensaftes nachwiesen, war es Mialhe[2]), der zuerst den Begriff Albuminose in die Wissenschaft einführte, indem er darunter das zur Resorption und Assimilation taugliche Endprodukt der Eiweissverdauung versteht. Leichte Löslichkeit und physikalische Indifferenz gegen Siedehitze und Salpetersäure nennt er dessen hervorstechendste Merkmale. Auch an Zwischenstufen zwischen dieser seiner Albuminose und dem nativen Eiweiss dachte er. C. G. Lehmann[3]) nannte diese Albuminose Pepton und begriff darunter einen Körper, den er trotz der übereinstimmenden Zusammensetzung scharf von den ursprünglichen Proteïnstoffen getrennt wissen wollte.

Nachdem nun Th. Schwann[4]) (1836) bereits das Pepsin als eiweisslösendes Prinzip des Magensaftes erkannt hatte, war Corvisart[5]) nach dem Vorgange Cl. Bernards (1855) dem peptischen Ferment der Bauchspeicheldrüse (Pancreatin) auf die Spur geraten. Kühne, der die Versuche Corvisart's selbst mit angesehen, verfolgte diesen rätselhaften Körper, bis es ihm gelang (1875), seiner habhaft zu werden. Er nannte denselben wegen seiner energischen und tiefgreifenden

---

[1]) Die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel. Leipzig 1852.

[2]) Comptes rendus XXIII, XXX. Vergl. auch v. Gerlach: „Die Peptone". Hamburg 1891 pag. 35.

[3]) Lehrb. d. phys. Chemie 1850.

[4]) Annalen d. Physik XXXVIII.

[5]) Sur une fonction peu connue du pancreas; la digestion des aliments azotées. Gaz. hebdomad. 1857.

Einwirkung auf die Proteïne bis zur Bildung von Amidosäuren Trypsin (τρύπτειν = zermalmen). Zunächst machte er eingehende Studien über das Verhalten dieser beiden Fermente, welche er im Gegensatz zu den geformten Fermenten oder Fermentorganismen Enzyme nannte, denen Meissner schon eine der des Ptyalins ähnliche sog. hydrolytische Wirkung zugeschrieben, weil sie wie alle übrigen ungeformten Fermente nur bei Gegenwart von Wasser ihre Thätigkeit entfalten können. Es gelang ihm auch bald, nicht nur reinen und zuverlässig wirksamen Magensaft[1]) darzustellen, er vermochte ausserdem auch bald Methoden anzugeben, sowohl das Pepsin[2]), wie das Trypsin rein zu gewinnen. Im Besitze solcher einwandsfreier Agentien konnte er mit gut erfüllten Vorbedingungen aussichtsreicher seine Untersuchungen über „Die nächsten Spaltungsprodukte der Eiweisskörper“[3]) beginnen, wie Meissner an dessen Arbeiten er unmittelbar die seinigen anschloss. Meissner[4]) betrachtete die Reactionsproducte der Verdauung noch als Albumine in einem Verhältnis wie Zucker, resp. Dextrin und Stärke. Er fasste die Proteïne demnach als Polymere oder Isomere der Peptone auf, wie Voit, der noch kurz vor Publikation der Kühne'schen Arbeiten auf ähnlichem Standpunkt steht. Ich verstehe, sagt er[5]), unter Pepton das in seiner procentigen Zusammensetzung mit den Eiweissstoffen identische Product, welches aus letzteren durch allerlei Einwirkungen unter Hydratation, vielleicht auch durch Vereinfachung der Molecularverbindung hervorgegangen ist, nicht mehr

---

[1]) Vergl. Ztschr. f. Biologie XIX, 1883. Neue Folge. Bd. I.

[2]) Ztschr. f. Biolog. XXII, 1886. N. F. Bd. 4. Verhandlungen d. Heidelberger naturhist.-med. Gesellschaft 1886. Vereinfachte Darstellung d. Trypsins.

[3]) Kühne u. Chittenden, Ztschr. f. Biol. 19.

[4]) loc. cit.

[5]) Herm. Hdbch. d. Physiolog. VI, 1 p. 119.

durch Essigsäure und Ferrocyankali ausfällt, und keine durch eingreifendere Behandlung entstandene weitere Spaltungsproducte enthält."

Auch Bunge[1]) kann sich gegen diese allerdings blendende Hypothese nur ungern verschliessen, wenn er sich äussert: „Es liegt etwas Verführerisches und Bestechendes in der Annahme, dass die colloïdalen und unlöslichen Eiweisskörper Polymerisationsproducte der löslichen Peptone seien, wie die colloïdalen und unlöslichen Kohlehydrate — Glykogen, Gummi, Stärke, Cellulose — thatsächlich Polymerisationsproducte der höheren Zuckerarten sind, dass die Peptonmolecüle nach der Resorption wieder zu Eiweissmolecülen vereinigt werden, wie die Zuckermolecüle zu Glykogen in den Geweben des Tieres oder zu Stärke und Holzfaser in den Geweben der Pflanze."

Noch entschiedener bekannte sich 12 Jahre vorher schon Robert Herth[2]), ein Schüler Maly's, zu dieser Auffassung, indem er erklärt: „Diese Verhältnisse scheinen mir es nahezulegen, auch bei dem Umwandlungsprocess des Eiweisses an eine solche Disgregation der Molecularverbindungen zu denken, d. h. die Peptonisierung desselben aufzufassen als die einfache Lösung einer Polymerisation."

Heutzutage steht nun das Gros der Autoren der Polymerisationstheorie[3]) vollkommen feindlich gegenüber und auf dem Boden der Kühne'schen Peptonlehre, voran der besonders um die physiologische Seite der Peptonforschung mit hervorragenden Verdiensten beteiligte Franz Hofmeister, der sich in seiner Abhandlung

---

[1]) Lehrb. d. phys. Chemie 1889, p. 179.

[2]) Ztschr. f. phys. Chemie Bd. I 1877. Über die chem. Natur des Peptons und sein Verhältnis z. Eiweiss p. 293.

[3]) Andere noch weniger haltbare Hypothesen über das Verhältnis von Eiweiss zu Pepton, z. B. die von Adamkiewicz, Griesmayer u. a. haben nur temporäre Beachtung gefunden.

über „Die chemische Structur des Collagens[1]) mit Beziehung auf einen Ausspruch von Berzelius[2]) über Schwierigkeiten in der chemischen Forschung folgendermassen äussert: „Diese Worte des Altmeisters sollten namentlich jene beherzigen, welche geneigt sind, die Isomerie der Peptone mit ihren Muttersubstanzen ohne weiteres bewiesen anzunehmen, weil es bisher nicht gelang, das Gegenteil zweifellos festzustellen."

Kühne's unbefangener Beobachtung verdanken wir also eine Erklärung über die Constitutionsfrage der Proteïne und das Verhältnis zu ihren Spaltungsproducten, die, wenn sie auch noch nicht endgültig abgeschlossene Resultate liefert, immerhin die Wahrscheinlichkeit der Annäherung an die wirklich bestehenden natürlichen Verhältnisse von allen bisher versuchten Deutungen im höchsten Grade zu eigen hat. Wie schon das Vorhandensein zweier zur Verdauung bestimmter, jedoch in wechselnder Reaction wirksamer sog. proteolytischer Enzyme im Nahrungsschlauche aus teleologischen Gründen sehr plausibel erscheinen lässt, folgerte Kühne aus der partiellen Zersetzlichkeit der Magenpeptone durch das Pancreas, dass es nach der Pepsinverdauung mindestens 2 Peptone gäbe, von denen eines mit Trypsin Amidosäuren liefere, das andere nicht. Er kam so zu der Annahme, dass im Eiweissmolecül 2 präformierte, chemisch differencierte Molecülgruppen vereinigt seien, deren Hydrate in Gestalt der beiden tryptisch zu unterscheidenden Peptone auftrete, nämlich als Hemipepton, das unter der pancreatischen Einwirkung zerfällt und als Antipepton, charakterisiert durch seine Resistenz gegen Trypsin. Mit einem reichen sorgfältigen Analysenschatz belegt, erfolgte vom Jahre 1883 an nacheinander, die Publication der Kühne'schen Arbeiten, welche er

---

[1]) Ztschr. f. physiol. Chemie Bd. II.

[2]) In seinem Lehrbuch der physiolog. Chemie Bd. 4.

anfangs mit seinem Schüler Chittenden[1]) gemeinsam ausführte. Später teilten sie sich mit R. Neumeister[2]), einem zweiten Schüler Kühne's, in die Bearbeitung des neuerschlossenen, umfassenden Gebietes. Eine besondere Förderung erfuhr dieselbe durch einen anderen Schüler Kühne's, J. Wenz, der mit glücklicher Hand, die von Méhu und Heynsius schon beobachtete Eigenschaft des Ammonsulfats, alle Eiweisskörper in gesättigter Lösung niederzuschlagen, dazu benutzte, eine exacte Methode der Trennung der Eiweisse von ihren Verdauungsproducten, den Peptonen, auszubilden.[3])

Ein verschiedenes Verhalten der digestiven Eiweissderivate unter sich hatte schon Meissner[4]), der die ersten Versuche hierüber anstellte, gefunden. Er unterschied die eigentlichen Peptone von dem Para- und Metapepton. Das eigentliche Pepton teilte er wiederum in a-, b- und c-Pepton wegen des verschiedenen Verhaltens zu Salpetersäure und Ferrocyankali-Essigsäure. Sein Dyspepton, welches den unveränderten Rückstand

---

[1]) Kühne und Chittenden, Über die nächsten Spaltungsprodukte d. Eiweisskörper. Ztschr. f. Biologie Bd. 19, 1883.
Über Albumose, ibid. Bd. 20, 1884.
Über die Peptone, ibid. Bd. 22, 1886.
Globulin und Globulosen, ibid. Bd. 22, 1886.
Myosin und Myosinosen, ibid. Bd. 25, 1889.
Kühne, Über Hemialbumose im Harn, ibid. Bd. 19, 1883.
Erfahrungen über Albumosen, ibid. Bd. 26, 1890 (p. 1 u. 308); Bd. 29, 1892; Bd. 30, 1894.

[2]) R. Neumeister, Zur Kenntnis der Albumosen; Über Vitellosen ibid. Bd. 23, 1887. Neumeister, Bemerkg. z. Chemie der Albumosen und Peptone; Über die Einführung d. Albumosen und Peptone in den Organismus. ibid. Bd. 24, 1888. Über die Reactionen der Albumosen und Peptone. ibid. Bd. 26, 1890.

[3]) J. Wenz, Preisgekrönte Dissertation, Heidelberg 1886; Ztschr. f. Biologie. 1886, Bd. 22.

[4]) loco cit.

enthalten sollte, bestand, wie Lubavin[1]) nachwies, zumeist aus Nucleoalbuminen. Das von ihm aufgestellte Parapepton erwies sich den Untersuchungen Kühne's später als Syntonin, das sogar am leichtesten Pepton lieferte. Immerhin ist, wie Kühne dies selbst zugibt, dieser Irrtum, der allerdings in der Geschichte der Verdauungsphysiologie eine Rolle gespielt hat, insofern leicht entschuldbar, als Meissner eben kaum wirklich guten und wirksamen Magensaft in Händen gehabt hat. Damit konnte er dann natürlich auch keine befriedigenden Resultate erzielen.

Besondere Sorge bei der Erforschung der Zwischenstufen zwischen Eiweiss und Pepton machte Kühne die Auffindung der Antialbumose und der Hemialbumose, wie er sie nannte. Erstere vermutete er richtigerweise unter Meissner's Parapeptonen, während ihm in der Entdeckung eines eigentümlichen Eiweisskörpers im Harn eines Osteomalacischen durch Bence Jones (1845) die Hemialbumose bereits gegeben war.[2]) So ergab sich für Kühne zunächst folgendes Schema in der Reihenfolge der Peptonisation:

Albumin

Antialbumin	Hemialbumin
Antialbumid[3])	Hemialbumid
Antialbumose	Hemialbumose
Antipepton	Hemipepton

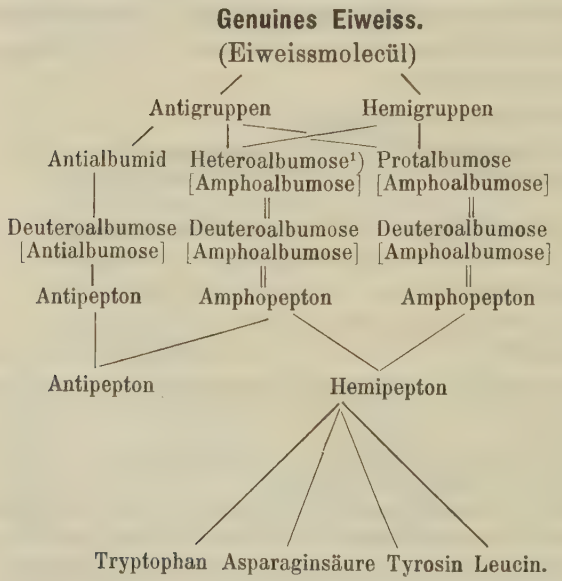
Die Resultate späterer Untersuchungen von ihm

[1]) Hoppe-Seyler, Med.-chem. Untersuchungen IV.

[2]) Zeitschr. f. Biologie Bd. 19, 1883.

[3]) Das Antialbumid zeigte sich identisch mit einem Körper, den Schützenberger (Bulletin de la société chim. de Paris Tome 23, 1875 p. 161) bei der Zerlegung von Eiweiss mit Ätzbaryt gefunden und Hemiproteïn genannt hatte.

und Neumeister involvierten allerdings eine Modification dieses provisorischen Schemas. Es zeigte sich nämlich, dass bei der Spaltung des Eiweissmolecüls aus dem Syntonin, entsprechend der fortschreitenden Hydratation, bis zur Bildung von Peptonen nicht eine Albumose entsteht, sondern eine Reihe von Zwischenstufen verschiedenen Charakters. Kühne unterschied deshalb primäre und secundäre Albumosen. Die ersteren differencieren sich wieder in Protalbumose und Heteroalbumose, während die letzteren, Deuteroalbumosen genannt, sich nur wenig unter sich unterscheiden. Erst diese secundären Albumosen werden durch weitere Spaltung in die eigentlichen Peptone übergeführt, welche in ihren physikalischen Eigenschaften conform, besonders in dem Verhalten gegen Fällungsmittel ihren verschiedenen Ursprung absolut nicht mehr erkennen lassen. Der Gang der Peptonisierung wird nun vollständig aus folgender von Neumeister aufgestellten Übersicht erkenntlich:



[1]) Durch längeres Verweilen unter Wasser sowie durch Trocknen

Mit der Bildung von Amphopepton bezw. Antipepton hat nach Kühne die digestive Einwirkung des peptischen Fermentes ihr Ende erreicht. Die weitere Metamorphose bis zur Bildung von Amidosäuren übernimmt dann das pancreatische Secret. Dieselbe beginnt eigentlich mit einer Wiederholung des Ganges der peptischen Verdauung jedoch nur auf das Amphopepton bezogen, während ja bekanntlich das Antipepton der tryptischen Zersetzung widersteht. Wie das ursprüngliche Eiweissmolecül unter der Einwirkung des Magensaftes in Anti- und Hemialbumosengruppen gespalten wird, so zerfällt das Amphopepton durch das pancreatische Ferment wieder in Antipepton und Hemipepton.

Bestimmte Angaben bezüglich der numerischen Progression der Spaltungsproducte lassen sich vorderhand wegen der unbekannten Moleculargrösse der Albumosen und Peptone nicht machen.

Die quantitative Zusammensetzung der Albumosen sowohl wie die der Peptone weicht allerdings von derjenigen des Eiweisses kaum ab, woraus die Wasseraufnahme bei der hydrolytischen Spaltung im Verhältnis zur Grösse des Eiweissmolecüls nur gering zu veranschlagen wäre, dennoch konnten Kühne und Chittenden an der Hand einer grossen Reihe sorgfältiger Analysen bei der Albumosenbildung eine evidente Zunahme des Wassergehaltes constatieren. Sogar zwischen primären und secundären Albumosen kann die Differenz bis über 1% betragen. Ausserdem muss eine Wasseraufnahme bei der Spaltung mit Notwendigkeit daraus gefolgert werden, dass, wie Henninger[1]) und Hof-

---

entsteht durch einen Denaturierungsprocess eine in neutralen Flüssigkeiten unlösliche Modification der Heteroalbumose, die Dysalbumose. Durch Soda und verdünnte Säuren wird sie wieder teilweise in Heteroalbumose zurückverwandelt.

[1]) Compt. rend. 86. De la nature et du rôle physiologique des peptones.

meister[1]) dargethan haben, beim Erhitzen von Deuteroalbumose auf 150° C. zunächst wieder primäre Albumosen und schliesslich syntoninartige Substanzen entstehen.

Auch die von Danilewski[2]) bei der Gewichtsbestimmung der Spaltungsproducte konstant gefundene Erhöhung gegenüber der Muttersubstanz spricht unzweideutig für eine Wasseraufnahme und es ist auch nicht wohl denkbar, die von Neumeister[3]) studierte, von Gmelin[4]) übrigens schon früher am Leim beobachtete Eigenschaft der meisten Eiweisskörper unter der Einwirkung überhitzten Wasserdampfes einen der fermentativen Peptonisation ähnlichen Spaltungsprocess einzugehen, anders als im Sinne einer Hydratation zu erklären.

Die chemische Differenzierung der Albumosen und Peptone unter sich und ihren Muttersubstanzen gegenüber basiert vor allem auf dem verschiedenem Verhalten ihrer Lösungen gegen Fällungsmittel und tierische Membranen.

Die Albumosen oder Propeptone zeigen in dieser Beziehung gewisse Ähnlichkeiten mit den Eiweisskörpern und zwar umso deutlicher, je weniger die Hydratisierung bei ihnen fortgeschritten ist. Ebenso wie jene bilden sie, wenn rein, amorphe, luftbeständige Pulver von geringem spez. Gewicht. Sie sind leichter löslich wie die Eiweisskörper, besonders in schwach sauren und alkalischen Flüssigkeiten, und werden durch Siedehitze oder Alkohol nicht coaguliert, durch letzteren allerdings

---

[1]) Ztschr. f. phys. Chemie Bd. II 1878. Über die Rückbildung von Eiweiss in Pepton. W. Kühne, Verhandl. d. nat.-hist. Ver. zu Heidelberg N. F. Bd. 3.

[2]) Centralblatt f. die medic. Wissensch. 1881.

[3]) Ztschr. f. Biologie 1890. Über die nächste Einwirkung gespannter Wasserdämpfe auf Proteïne und über eine Gruppe eigentümlicher Eiweisskörper und Albumosen.

[4]) Gmelin-Kraut, Lehrb. d. Chemie Bd. 4.

gefällt. Die Fällbarkeit durch die üblichen Reagentien ist geringer wie bei den Eiweisskörpern und abhängig von Concentration und Temperatur. Die letztgenannte Eigenschaft wird deshalb zur differential-diagnostischen Reaction zwischen Albumin und Albumose benutzt. Während nämlich das durch Kochen mit Salpetersäure aus einer Eiweisslösung erzeugte gelbe Coagulat der Siedehitze gegenüber indifferent bleibt, geht die Salpetersäure-Albumosenfällung beim Kochen in Lösung, kehrt aber beim Erkalten wieder. Ein analoges Verhalten zeigen die durch Essigsäure + NaCl erzeugten Albumin- und Albumosenfällungen. Der Salpetersäure-Albumosenniederschlag ist ferner im Überschuss von HNO_3, die Essigsäure-Kochsalzfällung in wenig überschüssigem Wasser löslich, eine dem Eiweisscoagulat mangelnde Fähigkeit.

Die Giltigkeit dieser Reactionen bezieht sich jedoch ohne weiteres nur auf Fibrinosen und Globulosen. Bei Anwendung auf Deuteroalbumosen, sowie Deuterovitellosen und Deuteromyosinosen versagen sie und werden nur wirksam, wenn die Lösung vorher mit Steinsalz gesättigt ist[1]).

Die primären und secundären Albumosen sowohl als auch die Albumosen gleicher Hydratationsstufen — als solche werden wenigstens nach Kühne Prot- und Heteroalbumose aufgefasst — sind auf Grund ihrer Löslichkeitsverhältnisse und ihres dadurch bedingten osmotisch verschiedenen Verhaltens unter sich trennbar und isolierbar. So ist Protalbumose in purem Wasser löslich, Heteroalbumose nur in salzhaltigem.

Die secundären Albumosen sind entsprechend der mit fortschreitender Hydratation zunehmenden Löslichkeit weniger leicht fällbar, wie die primären Albumosen. Auf eine Sättigung mit Kochsalz reagiert eine Prot-

[1]) Neumeister, Ztschr. f. Biolog. 1890.

albumosenlösung mit Ausscheidung, eine Deuteroalbumosenlösung erst nach Ansäuern. Protalbumose wird durch Salpetersäure aus concentrierter wässeriger Lösung, Heteroalbumose aus schwach salzsaurer oder essigsaurer Lösung gefällt, Deuteroalbumose erst bei Gegenwart von Neutralsalzen.

Ferrocyankalium + Essigsäure, neutrale Kupfersulfatlösung und überschüssige Pikrinsäurelösung fällen primäre Albumosen ebenso leicht wie die Eiweisskörper, secundäre Albumose jedoch erst bei stärkerer Concentration. Kupfersulfat verhält sich diesen gegenüber überhaupt indifferent.

Eine Trennung der primären von den secundären Albumosen kann nach Neumeister[1]) folgendermassen erreicht werden: Man salzt die ersteren möglichst vollständig aus der gemeinsamen neutralen Lösung durch Kochsalz aus, filtriert und setzt zu dem salzgesättigten Filtrat solange mit Kochsalz gesättigte Essigsäure zu, als noch ein Niederschlag entsteht. Diese Fällung ist ein Gemisch von primären und secundären Albumosen, weil durch die Essigsäure bei gleichzeitiger Kochsalzsättigung, zwar der noch in Lösung gebliebene Rest der primären Albumosen nunmehr vollkommen, aber auch zugleich ein gewisser Anteil der Deuteroalbumosen gefällt wird.

Ein weiterer Anteil der Deuteroalbumosen bleibt stets in der sauren Lösung, welche nach der Filtration, von der Essigsäure und dem Kochsalz durch Dialyse befreit wird. Aus der eingeengten wässerigen Lösung werden die Deuteroalbumosen durch Alkohol gefällt und getrocknet.

Diese Reactionen bezogen sich zunächst nur auf die Albumosen des Fibrins, an dem Kühne als dem „klassischen Objekte der Verdauungsversuche“ die Spalt-

---

[1]) Lehrb. d. physiol. Chemie 1893 pag. 188.

ungsvorgänge der Protëine studierte. Doch haben Chittenden und Neumeister dieselben Verhältnisse auch für die übrigen echten Eiweisskörper, sowie für die Protëide und Albuminoïde konstatiert. Die ersten Spaltungsstufen aller echten Eiweisskörper begreift Chittenden unter dem Namen der Proteosen. Dahin gehören ausser den Fibrinosen also auch die Globulosen, die „Albumosen", Myosinosen und Vitelosen.

Die Peptone stellen die höchsten Hydratationsstufen der Protëine, Protëide und Albuminöide dar. Sie sind deshalb auch viel leichter löslich als die Albumosen. Wie diese optisch activ und zwar linksdrehend werden sie weder durch Alkohol noch durch die Siedehitze in wässerigen Lösungen coaguliert. Wie die Eiweisse und Albumosen vereinigen sie sich sowohl mit Basen als auch mit Säuren zu salzartigen Verbindungen. Sie rechtfertigen demnach durch diese Eigenschaft die Annahme, dass die Peptone Gemische kompliciert verbundener höher Amidofettsäuren sind.

Es verdient Erwähnung, dass speciell wegen dieser Auffassung ein ziemlich erbitterter Streit zwischen der Schule Malys[1]) und der Hoppe-Seylers geführt wurde. Gelegentlich einer Replik, welche A. Kossel[2]), Assistent Hoppe-Seylers, in einer litterarischen Controverse gegen R. Herth, Schüler Malys, veröffentlichte, erklärt er sich in dieser Beziehung folgendermassen: „Die angeführten Versuche beweisen mit voller Sicherheit, dass Chlor und Calcium mit dem Pepton verbunden sind und ich lege auf die Thatsache, dass das Pepton fähig ist, mit Säuren und mit Basen zu-

[1]) R. Maly, Über Verwirrungen und Entstellungen in d. Peptonlehre. Pflüger's Archiv 20, 1879.

[2]) Über die chemische Zusammensetzung d. Peptone. Ztschr. f. phys. Chemie. Bd. III.

gleich Verbindungen einzugehen, desshalb ein besonderes Gewicht, weil sie, wie bereits von Lubavin und von Hoppe-Seyler hervorgehoben ist, einerseits eine wertvolle Analogie zu dem Verhalten der Amidosäuren bietet, andererseits den Verbrauch von Salzsäure bei der Verdauung erklärt."

In neuester Zeit wurde dies Verhalten der Peptone durch die Studien C. Paals[1]) an Säuresalzen der Gelatine und Albumin noch völlig entzweifelt. Besonders beweisend für die stark basischen Eigenschaften der Peptone sind seine Versuche am Eieralbumin[2]), indem es ihm gelang, schwefelsaures Peptonblei darzustellen. Wenn das Pepton im Stande ist, so starke Affinitäten wie Blei und Schwefelsäure zu trennen, so kenn man daraus den Grad der Basicität ohne weiteres ersehen.

Die Peptone unterscheiden sich von den Albumosen besonders auch durch physikalische Eigenschaften. Neutralsalze, selbst das universelle Ammonsulfat, vermögen dieselben nicht zu fällen. Die Peptone diffundieren viel leichter wie die Albumosen, weshalb sie wohl kleinere Molecüle besitzen müssen, wie jene. Kühne hat das endosmotische Aequivalent wirklicher Peptone bestimmt und allerdings viermal so gross wie das des Traubenzuckers gefunden[3]). Dasselbe ist also immerhin noch bedeutend genug. Jedenfalls kommt aber vollständig reinen Präparaten eine etwas grössere Diffutionsgeschwindigkeit zu. In reinem Zustande bilden die Peptone graugelbe amorphe, ungemein hygroskopische Pulver von widerlich bitterem Geschmack. Beim Liegen

---

[1]) C. Paal, Über die Peptonsalze des Glutins. Bericht d. d. chem. Ges. XXV, 6 1892.

[2]) C. Paal, Ber. d. d. chem. Ges. z. Berlin XXVII, 13.

[3]) W. Kühne, Ztschr. f. Biologie 1893 p. 23.

an der Luft ziehen sie sofort so viel Wasser an, dass sie zu einer gummiähnlichen Masse zerfliessen. Überraschend ist das Verhalten des Peptons gegen Wasser; eine Probe des Pulvers mit einem recht kleinen Tropfen Wasser benetzt zischt und dampft wie Phosphorsäureanhydrid, wenn man es befeuchtet und beim Auflösen in Wasser ist auch an dem zwar pulverigen, aber nicht absolut trockenen Präparate, welches nicht mehr zischt noch beträchtliche Wärmeentwicklung wahrzunehmen[1]). Bei weitem die meisten Fällungsmittel der Eiweisskörper und der Albumosen, wie Salpetersäure mit oder ohne Kochsalz, sowie Essigsäure und Ferrocyankali, überschüssige Pikrinsäure, Trichloressigsäure oder Jodquecksilberjodkalium mit Salzsäure sind gegen die Peptonlösungen unwirksam. Gefällt werden sie nur durch absoluten Alkohol, aus neutraler und saurer Lösung durch Phosphorwolframsäure und Phosphormolybdänsäure, aus neutraler durch Sublimat und Gerbsäure. Im Überschuss des letzten Fällungsmittels sind sie jedoch wieder löslich. Bei genügender Gegenwart von Neutralsalzen versagt auch Sublimat.

Die Einwirkung des Magensaftes auf die Protëide gestaltet sich derart, dass zunächt die Eiweisskörper von ihren Paarlingen abgespalten werden, worauf jene den bekannten Process eingehen.

Von den Albuminoïden kommen für die Magenverdauung nur das Collagen und Elastin in Betracht. Obschon nun die nächsten Spaltungsproducte des Collagens schon seit langer Zeit bekannt sind, haben dieselben jedoch früher eine eingehendere Untersuchung nicht erfahren. Sehr brauchbare Analysen des Leimes

---

[1]) W. Kühne. Ztschr. für Biolog. Bd. 22, 1886 pag. 432.

selbst existieren bereits von Mulder[1]), van Goudoever[2]) und Fremy[3]). Tiedemann und Gmelin[4]), Beaumont, Blondlot[5]) und Uffelmann[6]) stellten Beobachtungen über die Verdauung des Leimes an. Ihnen war der Übergang von Collagen in den gelatinierenden Leim und dessen nächste Spaltungsproducte bekannt. Gmelin machte bereits die Wahrnehmung, dass bei Einwirkung hochgespannter Wasserdämpfe Leimpepton entsteht und wenn nun auch, wie man aus oben erwähnten Gründen leicht begreifen kann, über das Wesen der nächsten Derivate des Leims vollständige Unklarheit herrschte, so waren doch damals die Endproducte der Leimverdauung schon verhältnismässig gut studiert.

Braconnot[7]) behandelte Leim mit verd. Schwefelsäure und fand im Reactionsproduct: Glykocoll, Leucin, Ammoniak und eine stickstoffarme, durch Gerbsäure fällbare Substanz.

Schützenberger und Bourgeois[8]) zersetzten Gelatine mit Ätzbaryt und fanden Ammoniak, Kohlensäure, Oxalsäure, Glykocoll, Alanin, Amidobuttersäure und Amidoverbindungen der Acrylreihe.

Horbaczewski[9]) liess nach dem Vorgange von Hlasiwetz und Habermann[10]), welche durch dreitägiges Kochen von Eiweiss mit einem Gemisch von

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. 45, 63.

[2]) Ann. Chem. Pharm. 45, 63.

[3]) Fremy, Jahresberichte d. Chemie. 1854, 701.

[4]) Gmelin-Kraut, Lehrb. d. Chemie. Bd. 4.

[5]) Traité analytique de la digestion, Paris et Nancy 1843 (n. Hofmeister).

[6]) Uffelmann, Archiv f. klin. Medicin.

[7]) Annal. Chim. Phys. t. 13.

[8]) Compt. rend. t. 82, Recherches sur la constitution des matières collagènes.

[9]) Sitzungsberichte d. Wiener Akademie 1879, 1885.

[10]) Sitzungsberichte II Bd. 76.

1 l HCl, 1 l Wasser und 375 gr Zinnchlorür am Rückflusskühler, die salzsaure Glutaminsäure isoliert hatten, ein ähnliches Gemisch, doch blos mit 37,5 gr Zinnchlorür, auf Gelatine einwirken und gewann als Zersetzungsproducte: Glutaminsäure, Ammoniak, Schwefelwasserstoff, und bei der Zersetzung von Horn und Haaren ausserdem noch Asparaginsäure.

C. Gaethgens[1]) digerierte 2 Tage lang mit 2 Teilen Schwefelsäure und 8 Teilen Wasser und bekam: Glykocoll, Leucin und Alanin und nur geringe Mengen von Asparaginsäure.

Hofmeister[2]) erhielt durch dreissigstündige Einwirkung von kochendem Wasser auf Gelatine 2 Körper, von denen der eine mit Platinchlorid fällbar und in 70 — 80% Alkohol unlöslich, der andere dagegen in Platinchlorid unfällbar und in Alkohol leichter löslich war. Mit Hilfe dieser Eigenschaften gelang es ihm beide Körper zu isolieren und er nannte den ersteren Semiglutin, letzteren Hemicollin.

In der Zeit nach der Aufstellung der Kühne'schen Theorie haben sich dann mit Untersuchungen der nächsten Spaltungsproducte des Glutins und Elastins besonders Chittenden[3]), V. Gerlach[4]), P. Tartarinoff[5]), F. Klug[6]) und C. Paal[7]) beschäftigt.

Während sich Chittenden besonders der primären Spaltungsproducte (Proto- und Deuterogelatinosen) annahm, suchten die anderen Autoren die wirklichen

---

[1]) Zur Kenntnis der Zersetzungsproducte d. Leims. Ztschr. f. phys. Chemie I, 299.

[2]) Ztschr. f. phys. Chemie II.

[3]) Chitt. und Solley, The primary cleavage products formed in the digestion of gelatin. Journ. of Physiol. Bd. 12 1891. Jahresb. f. Tierchemie Bd. 21 p. 23.

[4]) loc. cit.

[5]) loc. cit.

[6]) Pflüger's Archiv Bd. 48.

[7]) loc. cit.

Peptone des Leims rein zu gewinnen. Ich werde Gelegenheit haben, im experimentellen Teil hierauf zurückzukommen.

Von besonderem Interesse sind die Arbeiten C. Paals, der, von der Annahme ausgehend, dass die durch Einwirkung von Säuren auf Protoïnstoffe entstehenden Peptone in Form ihrer Salze im Reactionsproduct enthalten sein müssen, die Halogenwasserstoffsäuren sowie Schwefelsäure auf Glutin[1]), dann auch auf Albumin, Caseïn und Fibrin einwirken liess. Er fand auch thatsächlich seine Vermutung bestätigt, und es gelang ihm bald, auf Grund ihrer eigentümlichen Lösungsverhältnisse die Peptonsalze zu gewinnen. Das Verhalten derselben hat er besonders an den salzsauren Salzen[2]) beobachtet und ist damit zur Entdeckung einer Reihe von wichtigen Aufschlüssen in der Peptonlehre gekommen.

In Folgendem stellte ich mir nun die Aufgabe, die Einwirkung der Brom- und Jodwasserstoffsäure auf Gelatine in ihrer Analogie zu den von C. Paal untersuchten, durch Salzsäure bewirkten Veränderungen zu studieren, die von C. Paal angegebene Methode zur Darstellung freien Peptons aus Peptonsalzen mittels Silbersulfat auch bei diesen Halogensalzen anzuwenden und endlich eine neue Art der Trennung der Albumosen- bezw. Gelatinosensalze von den eigentlichen Peptonsalzen mit Hilfe von Ammonsulfat zu versuchen.

---

[1]) loc cit.

[2]) Dieselben sind auch schon physiologisch untersucht worden. Vergl. Fritz Heubach, Über Infusionen von C. Paal'schen salzsaurem Glutinpepton in d. Blutbahn. Ing.-Diss. Erlangen 1893. — Otto Ganz, Ein Fütterungsversuch mit C. Paal'schem Glutinpepton. Ing.-Diss. Erlangen 1893. Mit dem Bromsalzen werden gegenwärtig im hiesigen physiologischen Institute Versuche angestellt.

Darstellung von brom- und jodwasserstoffsaurem Glutinpepton.

In derselben Weise wie es C. Paal in seiner Abhandlung über die salzsauren Salze der Glutinpeptone beschrieben, wurden 20 gr reinste Gelatine in einer Porzellanschale in 4 gr mit 32 gr Wasser verdünnter Bromwasserstoffsäure gelöst und unter beständigem Umrühren auf dem Wasserbade erhitzt. Zeitweise wird mit dem Glasstabe eine Probe herausgenommen und in einem Überschuss von abs. Alkohol auf Löslichkeit geprüft. Es ist nötig, von Zeit zu Zeit kleinere Mengen Wasser und einige Tropfen Bromwasserstoffsäure nachzugiessen, um eine zu starke vorzeitige Concentration zu verhüten. Je nach der Concentration der angewandten Halogensäure ist die Reaction in 3—5—6 Stunden vollendet und die syrupöse dunkelbraunrot gefärbte Flüssigkeit wird in das mehrfache Volum abs. Alkohols eingetragen, wobei sich die anorganischen Bestandteile der Gelatine fast vollständig niederschlagen. Hievon wird abfiltriert. Bei kleineren Mengen kann man nun das alkoholische Filtrat direkt im Vacuum weiter verarbeiten, wie ich dies bei dem HBr-Salz Nr. I gethan habe; bei grösseren Quantitäten dagegen empfiehlt es sich zur besseren Beseitigung der grösseren Wassermengen und der überschüssigen Halogensäure, die Lösung in das circa zehnfache Volum abs. Äther langsam unter beständigem Schütteln einzutragen. Aus der anfangs diffus getrübten ätherischen Flüssigkeit setzt sich bald die Fällung in grösseren und kleineren Flocken ab, die an dem Boden des Kolbens festhaften. Der überstehende Äther wird dekantiert, der Niederschlag direct mit abs. Alkohol aufgenommen und daraus durch Trockenen bei 100° C. im Vacuum das Digestionsproduct in fester Form erhalten. Um möglichst rasch zum Ziele zu kommen, gibt man immer nur kleinere Portionen der alkoholischen

Lösung in einen nicht zu grossen Rundkolben aus gutem Glas und setzt diesen in ein mit siedendem Wasser gefülltes Gefäss. Die Öffnung des Rundkolbens wird luftdicht mit einer Wasserluftpumpe verbunden, deren Saugkraft durch ein angeschlossenes Quecksilbermanometer zu controlieren ist. Je nach der Hygroskopicität des vorliegenden Präparates gewinnt man nach einmaligem oder wiederholtem Auflösen desselben in Alkohol und erneutem Erhitzen im Vacuum die Substanz rascher oder langsamer in wasserfreier Form. Dabei bläht sich dieselbe so auf, dass sie oft den ganzen Kolben erfüllt, ein duftiges Gebäude aus tausenden kleiner luftleerer Bläschen bestehend, welche von der dünnlamllösen Substanz umschlossen werden. Ist dieselbe vollständig trocken, so muss sie hart und spröde genug sein, um mit Leichtigkeit durch einen in den Kolben eingeführten (gut getrockneten!) Draht zertrümmert werden zu können. Auf mehr oder weniger chicanöse Art lässt sich dann die gepulverte Masse mit Erhaltung des Kolbens aus demselben entfernen, von wo sie am Besten, um Wasseranziehung thunlichst zu vermeiden, gleich in ein peinlich getrocknetes mit gut schliessendem (ev. einzufettendem) Glasstöpsel versehenes Gefäss übergefüllt wird. Das Präparat muss in kaltem Methyl- bezw. Äthylalkohol vollkommen löslich sein. — Nach der angegebenen Methode gewinnt man circa 85° des Gewichtes der angewandten Gelatine an reinem, wasserfreiem Glutinpeptonbrom- bezw. jodhydrat. Bei den Jodsalzen liegt die Ausbeute natürlich entsprechend dem grösseren Moleculargewicht der Jodwasserstoffsäure bedeutend höher, bei circa 110 %. Abhängig ist sie hauptsächlich von der Ausfällung mit Äther, die natürlich um so vollständiger ist, je mehr Äther man opfert.

Die Zeit der Einwirkung bis zur Alkohollöslichkeit ist umgekehrt proportional der Concentration der angewandten Halogensäure. So wurde z. B. Salz Nr. II

aus 50 gr Gelatine mit einem Gemisch von 50 gr HBr und 150 gr Wasser in relativ kürzerer Zeit dargestellt wie Salz Nr. I. Salz Nr. III aus 100 gr Gelatine mit 60 gr HBr und 140 gr Wasser noch etwas rascher.

Löslich sind die HBr- und HJ-Salze der Glutinpeptone in Wasser, in den niederen Alkoholen, spielend leicht und fast in jedem Verhältnis in geschmolzenem Phenol. Von heissem Eisessig wurden sie ebenfalls aufgenommen, nur bei dem HBr-Salz Nr. I wurde nach dem Abkühlen wieder eine geringe Ausscheidung beobachtet. Wenig und unvollständig löslich sind sie in Aceton und Chloroform, unlöslich in Äther, Schwefelkohlenstoff und Benzol. Alle Salze reagieren auf Lakmus sauer. Der Geschmack ist säuerlich, etwas leimartig mit bitterem Nachgeschmack. Einen eckelhaften an schlechten Käse erinnernden Geschmack bekunden besonders die HJ-Salze. Der Schmelzpunkt ist selbstverständlich unbestimmbar, da diese Körper überhaupt nicht schmelzen, sondern sich beim Erhitzen aufblähen und in eine poröse Kohle verwandeln.

Ferrocyankalium + Essigsäure, Salpetersäure und Kochsalz verhalten sich gegen die wässerigen Lösungen der Salze vollkommen indifferent; nur Ammonsulfat erzeugt eine partielle Fällung, worauf ich weiter unten noch zurückzukommen habe. Ähnlich wie dieses verhält sich auch Phosphorwolframsäure. Die Biuretreaction zeigen alle Salze sehr intensiv; die Millon'sche Reaction, weil an die tyrosinführenden Gruppen gebunden, versagt natürlich.

Die Hygroskopicität der Salze ist beispiellos und macht sich besonders bei analytischen Operationen aufs Allerunangenehmste bemerkbar. Nur wenige Minuten mit der Luft in Berührung, hat das feinstaubige Pulver schon so viel Wasser angezogen, dass es in eine ungemein klebrige, pappige Masse umgewandelt ist.

Entsprechend der von C. Paal constatierten Thatsache, dass die Löslichkeit der Peptonsalze in den homologen Alkoholen dem abnehmenden Moleculargewicht der letzteren und dem zunehmenden Säuregehalt der ersteren proportional ist, musste auch der Säuregehalt der von mir dargestellten Halogensalze dem Alkohol entsprechen, bis zu dessen Lösungsvermögen die Digestion geführt wurde. Die Halogenbestimmung der HBr-Salze ergab deswegen folgende Resultate:

1. HBr-Salz Nr. I. (in $CH_3.OH$ lösl.)

0.7569 gr Subst. gaben 0.2858 AgBr = 0.1216 HBr = 16,37 % HBr.

2. HBr-Salz Nr. II (in C_2H_5 OH lösl.)

a. 0.433 gr Subst. gaben 0.2190 AgBr = 0.0943 HBr = 21.83 %;

b. 0.4706 gr Subst. gaben 0.2398 AgBr = 0.1033 HBr = 22.02 %.

3. HBr-Salz Nr. III (in $C_2H_5.OH$ lösl.)

a. 0.5452 gr Subst. gaben 0.2725 AgBr = 0.1174 HBr = 21.64 %;

b. 0.4211 gr Subst. gaben 0.211 AgBr = 0.0909 HBr = 21.68 %.

Die Löslichkeit der Peptonhalogensalze in Alkohol bietet neben anderen günstigen Bedingungen auch den unschätzbaren Vorteil, mit ihrer Hilfe zu sehr aschearmen Präparaten zu gelangen. Während die angewandte Gelatine einen Aschengehalt von über 2% angibt, zeigen alle auf die beschriebene Weise aus ihr dargestellten Salze einen weit niedrigeren Aschengehalt, wie aus folgenden Daten hervorgeht.

1. HBr-Salz Nr. I

1.0188 gr Subst. gaben 0.0068 gr Asche = 0.66 %.

2. HBr-Salz Nr III

a. 1.176 gr Subst. gaben 0.0034 gr Asche = 0.28 %
b. 0.9196 gr Subst gaben 0.0030 gr Asche = 0.32 %

3. HBr-Salz Nr III

0.8608 gr Subst. gaben 0.0043 gr = 0.49 % Asche.

Sämtliche Aschenanalysen wurden im bedeckten Platintiegel vorgenommen. Der Stickstoff wurde azotometrisch nach Dumas-Zulkowski bestimmt, die Kohlenwasserstoff-Analysen nach d. Liebig-Bunsenschen Methode im Kupferoxydrohr unter Vorlage einer reducierten Kupferspirale und einer Silberspirale ausgeführt. Der Halogengehalt wurde als Halogensilber durch Fällung mit Silbernitrat ermittelt. Sämmtliche Daten beziehen sich auf aschefreie Substanz.

Über die Zusammensetzung des basischen Teiles der Salze gaben folgende N-, C- u. H- Bestimmungen Aufschluss.

1. HBr-Salz I (Asche = 0.66%; HBr = 16.37 %)

0.1342 gr Subst. gaben 0.2022 CO_2 u. 0.0740 H_2O.

2. HBr-Salz II (Asche = 0.28%; HBr = 22.02%)

0.2647 gr Subst. gaben 0.3828 CO_2 u. 0.153 H_2O.

3. HBr-Salz III (Asche = 0.49%; HBr = 21.68%)

0.1589 gr Subst. gaben 0.2252 CO_2 u. 0.0907 H_2O.

1. HBr-Salz Nr. II

a. 0.212 gr Subst. gab bei B=739 mm; t = 20° C.,
v = 24.5 ccm = 0.027239 N.

b. 0.16 gr Subst. gab bei B = 749 mm; t = 22° C.,
v = 18,5 ccm = 0.020446 gr N.

2. HBr-Salz Nr. III

0.1488 gr Subst. gab bei B = 737 mm; t = 20° C.,
v = 18,0 ccm = 0,0199566 gr N.

In Procenten berechnet ergibt sich für die Salze folgende Übersicht:

	I	II		III
		a	b	
C	41.33%	39.67%		38.82%
H	6.16%	6.44%		6.37%
N		12.85%	12.78%	13.41%

Auf freies Pepton berechnet:

	I.	II.		III.
		a.	b.	
C	49.45%	50.92%		49.50%
H	7.13%	8.26%		7.78%
N		16.54%	16.46%	17.35%.

Wie oben schon erwähnt, machte es besondere Schwierigkeiten, die enorm hygroskopische Substanz vollständig trocken und wasserfrei zur Analyse zu bringen. Prof. Paal hatte sich zu diesem Zwecke einen sehr sinnreichen Trockenapparat construieren lassen, dessen kurze Beschreibung ich hier anfügen will.

Ein circa 50—60 cm langes, wagerecht an einem Stativ befestigtes Glasrohr aus starkem Glas von circa 2 cm Lichtweite, ist von einem luftdicht schliessenden Glasmantel umgeben, der 3 Öffnungen besitzt; 2 derselben sind luftdicht mit einem zur Hälfte mit Wasser oder einer beliebigen anderen Heizflüssigkeit zu füllenden Kolben verbunden, während an die 3. Öffnung sich schräg nach oben ein circa 1 m langes Steigerohr anschliesst. Die eine Öffnung der inneren Glasröhre ist mit einem Kautschukpfropfen dicht verschliessbar, das andere ausgezogene Ende ist durch gut schliessende Gummischläuche mit einer Bunsen'schen Saugpumpe verbunden. Zwischen Pumpe und Glasrohr ist ein Chlorcalciumrohr eingeschaltet. Die betreffende Substanz wird in ein Wägeröhrchen eingefüllt, das aus 2 einfachen Glascylinderchen besteht, von denen das eine genau passend über das andere geschoben werden kann. Das die Substanz enthaltende innere Cylinderchen wird nun mit einem längeren dünnen Bindfaden (Zwirn) unter Bildung einer langen Schleife umbunden und das offene Ende voran in das Trockenrohr eingeschoben. Die freie Schleife des Fadens hängt, um das Röhrchen wieder daran herausziehen zu können, über das Ende des Rohres heraus, welches dann mit einem Gummistopsel

verschlossen wird. Während die Dämpfe der Heizflüssigkeit das Trockenrohr umspülen, evacuiert die Pumpe und man kann je nach der Wahl der Heizflüssigkeit bei verschiedener Temperatur im Vacuum trocknen. Nach 40—50 Minuten nimmt man die getrocknete Substanz heraus, schiebt momentan das 2. Cylinderchen darüber und bringt es so verschlossen in den Exsiccator. Das Überfüllen in die analytischen Apparate geschieht ebenso möglichst rasch. Das Gewicht der Substanz bestimmt man am besten durch Zurückwägen des Röhrchens. Für die Kohlenwasserstoffbestimmungen wird die Substanz gleich im Platinschiffchen selbst getrocknet. Nach dieser Methode lässt sich bei raschem Operieren eine Wasseranziehung fast absolut vermeiden.

In derselben Weise wie die HBr-Salze wurden auch die HJ-Salze dargestellt, indem unter Anwendung von in verschiedenen Mischungsverhältnissen verdünnter Jodwasserstoffsäure feinste Gelatine peptonisiert wurde. Man erhält dabei leicht, ohne zuviel Äther zu verschwenden circa 100 % (vom Gewicht der angewandten Gelatine) an jodwasserstoffsaurem Glutinpepton. Während man die bromwasserstoffsauren Salze als incarnatfarbiges, leichtes, amorphes Pulver gewinnt, zeigen die HJ-Salze bei sonst gleichen Eigenschaften eine ockergelbe Färbung. Bezüglich der optischen Drehungsverhältnisse, der Diffusibilität und der Unlust zu krystallisieren, sind die brom- und jodwasserstoffsauren Salze den salzsauren Glutinpeptonsalzen vollkommen ähnlich[1]).

Die Analysen der jodwasserstoffsauren Peptonsalze ergaben folgende Resultate:

I. Aschebestimmungen.

HJ-Salz Nr. I

0.6679 g. Subst. gaben 0.0044 gr = 0.65 % Asche.

HJ-Salz Nr. II

0.9300 gr Subst gaben 0.0052 = 0.55 % Asche.

1) cf. C. Paal loc. cit

II. HJ-Bestimmungen.

HJ-Salz Nr. I

a) 0.4529 gr. Subst. gaben 0.269 AgJ = 0.1465 gr = 32,52 % HJ.

b) 0.4294 gr Subst. gaben 0.2506 AgJ = 0.1407 gr = 32,99 %.

HJ-Salz Nr. II

a) 0.5950 gr Subst. gaben 0.3391 AgJ. = 0.1847 = 31.21 % HJ.

b) 0.8726 gr Subst. gaben 0.5092 AgJ = 0.277351 HJ. = 31.26 %.

III. N-Bestimmung.

HJ-Salz Nr. I

0.1324 gr Subst. gab bei 747 mm Hg u. 22° C. 14,5 ccm = 0,0161385 N = 17,93 %.

IV. CH-Bestimmungen.

HJ-Salz Nr. I

0.1226 gr Subt. gaben 0.1557 CO_2 u. 0.0566 H_2O

HJ-Salz Nr. II

0.1864 gr. Subst. gaben 0.2356 gr CO_2 und 0.0944 H_2O.

In procentischer Übersicht.

	I.		II.	
	a)	b)	a)	b)
C	34.84 %		34.41 %	
H	5.17 %		5.63 %	
N	12.18 %		—	
HJ	32.52 %	32,99 %	31.21 %	31.26 %

Auf freies Pepton berechnet:

	I.	II.
C	51.76 %	50.51 %
H	7.67 %	7.94 %
N	17.93 %	—

Der besonders anfangs auffallend an Brom- bezw. Jodäthyl erinnernde Geruch der Peptonsalze, lässt es vermuten, dass sich solches aus dem halogensauren Pepton in kleinen Mengen succesive abspaltet, was ja leicht möglich ist, da die meisten Peptonhalogensalze infolge der wiederholten Behandlung mit siedendem Alkohol, wie C. Paal schon beobachtet hat, eine Esterficierung erfahren haben. Paal konnte auch thatsächlich durch Verseifung mit Ätzkali nicht unbeträchtliche Mengen von Alkohol abspalten und im Destillate analytisch nachweisen. Er hat ausserdem auch aus dem negativen Resultat seiner Versuche, sowohl Kupfersalze zu gewinnen als auch nach Curtius Diazoäther darzustellen, gefunden, dass diese Esterification nicht etwa durch zu tief greifende Spaltung entstandene Amidosäuren betrifft, sondern dass es sich um wirkliche Peptonäther handelte, welche als salzsaure Peptonäthyl- bezw. methylester vorliegen.

Die hohen Werte der CH-Analysen besonders des HBr-Salzes Nr. II und HJ-Salzes Nr. I u. II lassen mit Sicherheit ebenfalls auf eine solche Esterbildung schliessen. Ich werde weiter unten Gelegenheit finden, bezüglich eines noch prägnanteren Falles auf diese Frage zurückzukommen.

Versuche zur Zerlegung der brom- und jodwasserstoffsauren Glutinpeptonsalze durch fractionierte Fällung mit Äther.

Wie C. Paal dies bei den salzsauren Salzen des Glutinpeptons vorgenommen hat, so versuchte auch ich ein solches Peptonsalz, das die Base im Sinne Kühnes offenbar als Pepton-Glutosengemisch enthält, durch fractionierte Ätherfällung in verschieden hohe Hydratationsstufen zu zergliedern.

10 gr des HBr-Salzes Nr. III (Asche = 0,49 %; HBr = 21,68 %) wurden in reichlich absolutem Alkohol

gelöst, dann unter beständigem Schütteln absoluter Äther zugegeben. Von dem feinflockigen, weissen Niederschlag wird die Mutterlauge decantiert und in gleicher Weise mit Äther behandelt. Die nochmals abgegossene Mutterlauge wird dann mit Äther vollständig ausgefällt. Die Fraktionen werden im Vacuum bei 100° C. getrocknet. Die Ausbeute war folgende:

1. Fraction 2 gr
2. Fraction 4 gr
3. Fraction 3 gr.

Da das Säurebindungsvermögen mit fortschreitender Hydratation zunimmt, so musste die Halogenbestimmung über die verschiedenen vorliegenden Peptonisationsstufen Aufschluss geben.

Fraction I

0.453 gr Subst. gaben 0.214 AgBr = 0.09167 gr = 20.23% HBr

Fraction II

0.222 gr Subst. gaben 0.1052 AgBr = 0.04526 gr = 20.38% HBr

Fraction III

0.3984 gr Subst. gaben 0.2000 AgBr = 0.08617 gr = 21.62% HBr.

Wie die analytischen Daten zeigen, war die Trennung mit Äther eine äusserst mangelhafte, besonders vermisst man die Hydratationsstufen, deren Säuregehalt über dem der Muttersubstanz liegt. Jedenfalls sind diese in der nicht vollständig ausgefällten Mutterlauge zu suchen. Dass aber die fractionierte Fällung mit Äther bezüglich der Trennung in verschiedene Componenten bessere Resultate zu liefern im Stande ist, haben die Versuche Paals an den HCl-Salzen ergeben, der damit eine Differenz im Säuregehalt von 4% bekam. Noch bessere Erfolge erzielte er durch Anwendung der Dialyse, wodurch es ihm gelang, ein HCl-Salz von 10,56% Salz-

säuregehalt in 2 Componenten zu zerlegen, von denen die eine einen HCl-Gehalt von 5,79 %, die andere einen solchen von 14,19 % aufwies, also eine Differenz von 9 %.

Versuche zur Zerlegung der Glutinpeptonbrom- und jodhydrats mit Ammonsulfat.

Hat die fractionierte Ätherfällung den Vorzug, mit ihrer Hilfe die Hydratation der Peptonsalze allerdings in kleinen Stufen, aber doch nur innerhalb engerer Grenzen verfolgen zu können, vermag man andererseits mit der Dialyse besonders die niedersten Peptonisationsgrade zu isolieren, so scheint doch keine der beiden Methoden die Fähigkeit zu besitzen, die scharfe Grenze zwischen den 2 markantost unterschiedenen Hydratisierungsproducten anzugeben, nämlich zwischen Pepton und Propepton. Liesse es sich vielleicht denken, dass man die Äthermethode bis zu dieser Subtilität noch fortzubilden vermöge, so scheint dies für die Dialyse doch nicht möglich, da ja die secundären Preteosen ein, wenn auch geringes Diffusionsvermögen besitzen. In Anbetracht dessen versuchte ich auf anderem Wege bei den Peptonsalzen des Glutins eine solche Scheidung herbeizuführen. Seitdem Wenz in dem Ammonsulfat ein so vorzügliches Mittel gefunden hatte, sämtliche Eiweisskörper mit Ausnahme der echten Peptone aus Flüssigkeit niederzuschlagen, war man im Stande, diese eigentlichen Peptone eines jeden Eiweisskörpers zu isolieren. Kühne hat eine genaue Methode angegeben, die er besonders durch Versuche mit Fibrinpeptonen ausbildete. Sie ist von ihm auch auf das Albumin und Globulin, von seinen Schülern Chittenden und Neumeister auch auf Myosin; Vitellin, Elastin und Glutin angewendet worden. Chittenden hat aber bei seinen Verdauungsversuchen zum grossen Teil nur die ersten

Peptonisationsproducte erhalten, die er in Proto- und Deuterogelatose trennte und für sich studierte[1]).

Dann befindet sich unter den neueren Arbeiten auch eine solche von F. Klug[2]), deren bemerkenswertestes Resultat jedoch vielleicht nur die Einführung der Nomenclatur „Glutose" ist. Klug verdaute Leim mit Pepsin nach der Vorschrift von Kühne und Chittenden und trennte das Reactionsproduct mit Ammonsulfat. Er stellte auch durch Kochsalz- bezw. Kochsalz-Essigsäurefällung Proto- und Deuteroglutose dar. Bei diesen Versuchen fand er nun einen, wie er sagt, „unverdaulichen" Rest, den er Apoglutin nannte. In seinen Betrachtungen über die analytischen Daten und das sonstige Verhalten dieses Körpers, kommt er zu folgendem Resumé: „Das Apoglutin ist also an Kohlenstoff und Stickstoff, insbesondere aber an ersterem bedeutend reicher als der Leim. Da sich Apoglutin bei jeder (? d. V.) Verdauung ausscheidet, so folgt, dass Glutose aus Leim in der Weise gebildet wird, dass sich von diesem das Apoglutin abspaltet. Das Letztere ist weder Leim noch kann es unter dem Einfluss der Verdauungssäfte zu Leim oder Glutose werden." — „Dasselbe ist im heissen und kalten Wasser gleich unlöslich, ist nicht klebrig und kann vollkommen nur in concentrierter Schwefelsäure (!) gelöst werden.

Über die gewonnene Glutose berichtet er: „Der Glutosenniederschlag zerfliesst auf dem Wasserbade. Getrocknet bildet derselbe eine hornartig harte, sehr schwer pulverisierbare Masse, die sich in kaltem Wasser nur schwer, in heissem leicht löst, deren Lösungen aber nicht gelatinieren."

Das Interessanteste an Klugs Arbeiten sind nun entschieden die analytischen Ergebnisse, die er aller-

---

1) Chittenden und F. Solley loc. cit.
2) Pflügers Archiv Bd. 48, 1891 p. 100.

dings nicht selbst verschuldet hat. In seiner „gereinigten“ Gelatine fand er z. B. für

C 43.06 %	H 7.03 %	N 15.38 %
42.45 %	6.99 %	15.84 %.

In der urprünglich dargestellten Glutose fand er 25 % Asche und zwar besonders Ammonsulfat. Das war selbst ihm zu hoch und er machte nun den Versuch, dieselbe durch Dialyse zu reinigen, was ihm aber nicht gelang, indem, wie er behauptet, „Leim und Glutose von Ammonsulfat gar nicht oder nur ungemein schwer zu trennen seien.“ Ich weiss nun nicht, wie F. Klug Aschenbestimmung und Dialyse ausgeführt hat, aber das leichte Diffusionsvermögen des Ammonsulfats ist jedenfalls über allen Zweifel erhaben, geradeso, wie es, wenigstens nach der allgemeinen üblichen Methode unmöglich ist Ammonsulfat als Asche zu bestimmen, weil es ja, wie bekanntlich alle Ammoniaksalze bei höherer Temperatur flüchtig ist. Um nun seine Glutose dennoch rein zu gewinnen, fällte er sie durch Alkohol, fand aber immer noch 2.14 % Asche und ausserdem für

C - 40.18 %	H - 6.99 %	N 15.5 %
38.94 %	7.05 %	

Sein „Glutinopepton“ hat dagegen folgende Zusammensetzung:

C - 43.25 %	H - 7.28 %	N - 15.89 %
42.66 %	7.08 %	

Asche = 3.17 %

Apoglutin aus Pepsinverdauung

C - 48.60 %	H - 7.52 %	N 14,02
48.19 %	7.49 %	

Asche = 5.2 %

Apoglutin aus Pancreasverdauung

C - 48.63 %	H - 8.32 %	N - 11.65 %
49.59 %	8.65 %	

Asche = 28.19 %!

Im Hinblick auf diese analytischen Ergebnisse ist die Beschaffenheit der Klug'schen Glutosen und Peptone mindestens eine sehr fragwürdige und was vollends sein Apoglutin anbelangt, so ist es im höchsten Grade wahrscheinlich, dass dasselbe nur aus mit Leim verunreinigtem Gyps bestanden hat. Trotzdem vergleicht er unbekümmert um die analytischen Differenzen seine Glutose mit Hofmeisters Semiglutin und sein „Glutinpepton" mit dessen Hemicollin, obwohl, wie er selbst anführt, die Farbenreactionen mit Kupfersulfat diametral entgegengesetzte Befunde lieferten. Ob das Kühne-Wenz'sche Verfahren von anderer Seite. mit mehr Glück auf Gelatinosen angewendet wurde, ist mir nicht bekannt. Peptonsalze des Leims sind jedenfalls bis jetzt noch nicht mit Ammonsulfat behandelt worden.

Bei der Verschiedenheit der Löslichkeitsverhältnisse des Ammonsulfats und der Halogenpeptonsalze war es nun mindestens naheliegend, einen Versuch mit dieser Trennungsmethode zu machen. Ich habe denselben mit einem HBr- und einem HJ-Salze ausgeführt und bin zu ganz befriedigenden Resultaten gelangt. Die Löslichkeit der brom- und jodwasserstoffsauren Glutinpeptone in Alkohol wurde dazu benutzt, ein von dem Kühne'schen abweichendes Verfahren einzuschlagen, zugleich in der Absicht reinere und ascheärmere Präparate zu gewinnen. Zum Vergleich will ich die von Kühne [1]) präcisierte Vorschrift voranschicken:

„Die hinreichend verdünnte, von Albuminaten und coagulabeln Stoffen befreite Verdauungslösung wird zuerst bei nahezu neutraler Reaction in der Siedehitze mit Ammonsulfat gesättigt, nach dem Abkühlen von den Salz und Albumosenausscheidungen getrennt, wieder erhitzt, nach begonnenem Sieden mit Ammoniak und Ammoniumcarbonat kräftig alkalisch gemacht, von neuem in der Hitze mit dem Sulfat gesättigt, nach dem

Abkühlen von der zweiten Albumosenfällung abfiltriert, zum 3. Male erhitzt, bis der Geruch nach Ammoniak verschwunden ist, nochmals mit dem Salze heiss gesättigt und nunmehr mit Essigsäure deutlich angesäuert, worauf eine dritte Albumosenfällung hauptsächlich während des Abkühlens erfolgt.“ Zur Entfernung des Salzes wird die Flüssigkeit durch heftiges Sieden unter Umrühren eingedampft, die concentrierte Lösung von den Krystallen abgesaugt und mit $^1/_5$ Volum Alkohol versetzt. „Die von der neuen Salzmasse abgesogene trübe Flüssigkeit scheidet sich alsbald in eine obere alkoholreichere und eine untere salzreiche Schicht. Indem man die letztere mit Alkohol bis zur beginnenden Salzfällung behandelt und so fortfährt an den mit dem Scheidetrichter zu trennenden Schichten, bleibt endlich nur ein geringer Rest schwerer salzreicher Lösung übrig. Die leichteren alkoholreichen Schichten vereinigt enthalten relativ wenig Ammonsulfat neben reichlich Pepton und lassen in eine Kältemischung gestellt, noch einen guten Teil Salz auskrystallisieren. Was nun übrig bleibt, wird durch Kochen vom Alkohol und durch weiteres Sieden mit entsprechenden Mengen Baryumcarbonats vom Sulfat befreit.“ Vom schwefelsauren und kohlensauren Baryt wird abfiltriert und und im Filtrat durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure der überschüssige Baryt entfernt. Giebt eine filtrierte Probe der Flüssigkeit weder mit Schwefelsäure noch mit Chlorbaryum eine Trübung, so ist die Operation beendet. Man giesst nunmehr die auf dem Wasserbade stark concentrierte und ammoniakfrei gewordene Peptonlösung in absoluten Alkohol, wäscht den Niederschlag mit letzterem aus und trocknet das Pepton im Vacuum über Schwefelsäure[1]).

---

[1]) K. Neumeister, Lehrbuch des phys. Chemie 1893 p. 193.

Zu dem gleichen Ziele bin ich nun auf folgendem Wege gelangt: Das Peptonsalz wird in möglichst wenig Wasser gelöst, diese Lösung mit reinem Ammonsulfat in Substanz übersättigt und 24 Stunden stehen gelassen. Das lösliche „Peptonsalz" wird dann von dem niedergeschlagenen, als schmierige Masse an den am Boden des Gefässes befindlichen Ammonsulfat-Krystallen haftenden Propepton auf ein Filter abgegossen und der Rückstand noch mit gesättigter Ammonsulfatlösung ausgewaschen. Die getrennten Salze werden dann folgend behandelt.

1) Das in gesättigter Ammonsulfatlösung enthaltene „eigentliche Peptonsalz" wird mit der vielfachen Menge siedenden Alkohols solange versetzt, bis kein Ammonsulfat mehr ausfällt. Von diesem wird nach dem Erkalten abfiltriert und nochmals bis zur möglichst vollständigen Ausfällung des Ammonsulfats siedender Alkohol zugegeben. Nachdem man am Rückflusskühler unter öfterem Umschütteln die alkoholische Lösung im Sieden erhalten hat, wird nochmals abfiltriert und erkalten lassen. Hiebei fällt noch weiteres Ammonsulfat aus. Zuletzt wird das Salz in der oben schon beschriebenen Weise in kleinen Mengen im Vacuum bei 100° C getrocknet. Hiebei ist es nötig, von neuerdings sich ausscheidenden Massen abzufiltrieren. Dieselben besitzen amorphes Aussehen, wenn auch einzelne Kryställchen dazwischen wahrnehmbar sind. Beim Erhitzen im Proberöhrchen hinterlassen dieselben einen schwarzen, kohligen Rückstand. Derselbe musste von irgend einer unlöslichen, beigemischten organischen Substanz herrühren. Es hatte wohl offenbar in diesem Falle durch Wechselwirkung eine Umsetzung von HBr- bezw. HJ-Salz und Ammonsulfat zu Brom- bezw. Jodammonium und Peptonsulfat stattgefunden. Letzteres ist im Gegensatz zu den Halogensalzen in Alkohol nur schwer löslich. Die Gegenwart von Peptonsalz muss dem Ammonsulfat eine,

wenn auch geringe Löslichkeit in Alkohol verleihen, denn trotz der angestrengtesten Bemühungen wollte es mir nicht gelingen, eine vollständige Entfernung dieses ungebetenen Gastes zu erzielen. Um mich über den Gehalt der Beimengung zu orientieren, bestimmte ich die Schwefelsäure als Baryumsulfat bei HBr-Salz Nr. III.

0.8267 gr Subst. gaben 0.0291 gr $BaSO_4$ = 0.012248 H_2SO_4 = 1,48 %.

Doch rührt der Schwefelsäuregehalt wohl zum grössten Teil von dem gebildeten Peptonsulfat her. Das HJ-Salz gab übrigens eine ganz unbedeutende Schwefelsäurereaktion.

2) Das durch Ammonsulfat gefällte und an den Krystallen haftende Propepton-Salz wird durch Auskochen mit siedendem Alkohol in Lösung gebracht und von dem darin unlöslichen Ammonsulfat unter Nachwaschen abfiltriert und ebenfalls im Vacuum bei 100° C. getrocknet. Für die Trennung des HBr-Peptonsalzes Nr. II wurden verwendet 10 gr.

Ausbeute: 4 gr eigentl. Peptonsalz, 3 gr Propeptonsalz.

Für die Trennung des HBr-Salzes Nr. III angewendet 20 gr.

Ausbeute: 12 gr eigentl. Peptonsalz, 3 gr Propeptonsalz.

Für die Trennung des HJ-Salzes Nr. I angewendet: 32 gr.

Ausbeute: 19 gr eigentl. Peptonsalz, 6 gr Propeptonsalz.

Es lag demnach in den ursprünglichen Salzen der grösste Teil als wirkliche Peptonsalze (im Sinne Kühnes) vor.

Dass durch die geschilderte Behandlung die Peptonsalze eine tiefgreifende Trennung in zwei an Säuregehalt sehr verschiedene Componenten erfahren, geht aus folgenden Halogenbestimmungen hervor:

1) Eigentl. Peptonbromid Nr. II
0.4645 gr Subst. gaben 0.3355 gr AgBr = 0.1445 gr = 31.10 % HBr.

2) Propeptonbromid Nr. II
0.2313 gr Subst. gaben 0.0551 AgBr = 0.0237 HBr = 10,24 % HBr.

3) Eigentl. Peptonbromid Nr. III.
a) 0.2564 gr Subst. gaben 0.1659 AgBr = 0.071478 HBr = 27.87 %.
b) 0.4231 gr Subst. gaben 0.2764 AgBr = 0.119406 HBr = 28.22 %.

4) Propeptonbromid Nr. III.
0.2711 gr Subst. gaben 0.0752 AgBr = 0.0308 HBr = 11.36 %.

5) Eigentl. Peptonjodid Nr. I.
0.6424 gr Subst. gaben 0.5504 AgJ = 0.3000 HJ = 46.68 %.

6) Propeptonjodid Nr. I.
0.792 gr Subst. gaben 0.3026 AgJ = 0.16482 HJ = 20.68 %.

Diese Daten sprechen unzweideutig dafür, dass Säurebindungsvermögen und Peptonisation miteinander parallel gehen. Der Grad der Hydratation kann direkt an dem Säuregehalt gemessen werden.

Die Reinheit der Präparate hat dabei, wie man vielleicht denken könnte, nicht nur nicht Not gelitten, sondern der Aschegehalt scheint dem der Muttersubstanz gegenüber durchweg reduciert.

1) Propeptonbromid Nr. II.
0.8030 gr Subst. gaben 0.0012 gr = 0.14 % Asche.

2) Eigentl. Peptonbromid Nr. III.
1.0678 gr Subst. gaben 0.0007 gr = 0.06 % Asche.

3) Propeptonbromid Nr. III.

1 1748 gr Subst. gaben 0.0017 gr = 0.14% Asche.

4) Eigentl. Peptonjodid Nr. I.

0.9682 gr Subst. gaben 0.0035 gr = 0.36% Asche.

5) Propeptonjodid Nr. I.

1.3277 gr Subst. gaben 0.0010 gr = 0.07% Asche.

Die CH-Bestimmungen ergaben folgende Befunde:

1) Eigentl. HBr-Salz Nr. III.

a) 0.109 gr Subst. gaben 0,1354 CO_2 = 0.036927 C = 33.88%.

0.109 gr Subst. gaben 0.061 H_2O = 0.006777 H = 6.21%.

b) 0.1919 gr Subst. gaben 0.2364 CO_2 = 0.064472 C = 33.6%.

0.1919 gr Subst. gaben 0.099 H_2O = 0.01100 H = 5.73%.

2) Eigentl. HJ-Salz Nr. I.

a) 0.185 gr Subst. gaben 0.1986 CO_2 = 0.054163 C = 29.37%.

0.185 gr Subst. gaben[1])

b) 0.1606 gr Subst. gaben 0.1722 CO_2 = 0.046963 C = 29.33%.

0.1606 gr Substanz gaben 0.080 H_2O = 0.008307 H = 5.19%.

3) Propeptonjodid Nr. I.

0.1500 gr Subst. gaben 0.2156 CO_2 = 0.0588 C = 39.2%.

0.1500 gr Subst. gaben 0.0902 H_2O = 0.00978 H = 6.52%.

---

[1]) Die H_2O-Analyse verunglückte.

Von den Jodpepton- und propeptonsalz wurde ausserdem noch der Stickstoff bestimmt mit folgenden Ergebnissen:

1) Eigentl. HJ-Salz Nr. I.
0.1600 gr Subst. gab bei B = 749 mm, t = 21° C,
v = 16.5 ccm — 0.0185064 gr N = 11.56 %.

2) HJ-Propeptonsalz Nr. I.
0.2192 gr Subst. gab bei B = 744 mm, t = 22° C,
v = 27.75 ccm 0.0304810 gr N = 13.9 %.

Auf freies Pepton berechnet ergibt sich hieraus folgende Übersicht in Procenten:

	Eig. HBr-Pept. III.		Eig. HJ-Pept. I.		HJ-Propept. I.
	a)	b)	a)	b)	
C	48.20	47.86	55.26	55.19	49.45
H	8.31	8.07	—	9.76	8.22
N			21.57		17.53.

Bei Betrachtung dieser Ergebnisse mussten vor Allem die ungewöhnlich hohen Werte bei dem eigentlichen HJ-Salz Nr. I befremden, welche die höchstgefundenen Werte für Glutin bedeutend übersteigen. Dieselben waren trotz der 2 sehr gut übereinstimmenden CH-Analysen kaum als richtig anzunehmen. Es wurde aber vorläufig von einer dritten Bestimmung Abstand genommen. Erneute Zweifel wurden jedoch rege, als ich bei der 4 Monate später ausgeführten Stickstoffbestimmung eine so ganz abnorme Zahl fand. Um der Ursache auf die Spur zu kommen, begann ich zuerst mit Wiederholung der Halogenbestimmung. Da war auch sofort die Lösung des Rätsels gegeben. Die neue Analyse ergab nämlich 36.48 % HJ. (0.3984 gr Subst. =0.2666 AgJ = 0.145211 HJ) gegen früher bestimmte 46.68 % HJ.

Nun war es doch hinwiederum kaum anzunehmen, dass die frühere Bestimmung mit 10 % Fehlerdifferenz

ausgeführt wurde. Um mir auch hierüber Gewissheit zu verschaffen, machte ich eine dritte CH-Analyse des Salzes und nun ergaben sich auf einmal auch hier viel niedrigere, in die Norm fallende Werte:

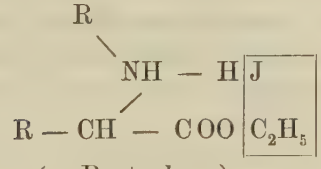
0.1638 gr Subst. gab 0.180 CO_2 = 0.049 C = 29.91 % und 0.0810 H_2O = 0.0082 g = 5.00 % H.

Auf f. Pept. berechnet:

C = 47.47 %; H = 7.93 %.

Ich suche die Erklärung in Folgendem: Wegen der ganz enormen Hygroskopicität des eigentl. HJ-Salzes Nr. I (wodurch sich die hochprocentigen Salze überhaupt auszeichnen) gelang es mir trotz aller Mühe und Vorsicht nicht, die Substanz trocken zur N-Analyse zu bringen. Unter wiederholten Versuchen war der Vorrat des Präparates soweit zusammengeschmolzen, dass er gerade noch für eine notwendig auszuführende Moleculargewichtsbestimmung reichte. Es wurde deshalb derselbe zuerst hiefür benützt und dann aus der wässerigen Lösung wieder zurückgenommen. Bei dem Trocknen wurde diesmal eine niedrigere Temperatur angewendet (70 ° C.) und es gelang diesmal, die Stickstoffanalyse zu vollführen.

Es kann nach den Resultaten der letzten Bestimmungen keinem Zweifel unterliegen, dasss sich sowohl während der Zeit des Aufbewahrens (4 Monate) als auch noch während der Moleculargewichtsbestimmung aus dem hochesterificierten Präparate eine grössere Menge Jod als Jodalkyl abgespalten hatte nach folgendem Typus:



(= Peptonkern)

Und dies um so sicherer, als sich bei nachträglich noch ausgeführter Halogenbestimmung des Muttersalzes bei diesem auch eine HJ-Differenz von nahezu 2% zeigte.

0.2970 gr Subst. gab 0.1682 gr AgJ = 0.091615 HJ = 31.01%

gegen früher bestimmte 32.99%.

Das zugehörige Propeptonjodid I war konstant geblieben, ein Beweis dafür, dass die hohe Esterficierung hauptsächlich die höher peptonisierten Salze zu betreffen scheint.

0.4000 gr Subst. gab 0.1518 gr AgJ = 0.08268 HJ = 20.67%

gegen früher bestimmte 20.68%.

Bei der Darstellung von freiem Pepton aus dem eigentlichen HJ-Salz Nr. I (s. unten) konnte ebenfalls aus den analytischen Daten die durch die Behandlung mit Ätzbaryt erfolgte Abspaltung des Alkohols direct ersehen werden. Eine weitere Eigentümlichkeit des Salzes lag noch darin, dass, wenn man es in Methylalkohol klar gelöst hatte und Äthylalkohol zufügte, eine grössere Menge des Salzes als weisser feinflockiger Niederschlag wieder ausfiel. Derselbe konnte jedenfalls nur aus freiem Pepton bestehen, das sich infolge der Abspaltung von Jodalkyl gebildet hatte.

Darstellung von freien Peptonen aus ihren Halogensalzen.

Versuche, die Peptone aus der sauren Lösung der Verdauungsflüssigkeit als freie (säurefreie) Basen zu gewinnen, sind mit verschiedenen Mitteln angestellt worden. Wenn nun auch V. Gerlach [1]) und Paul Tartarinoff [2]) durch sorgfältiges Ausfällen mit kohlen-

[1]) loc. cit.
[2]) loc. cit.

saurem Kalk bezw. mit NH_3 zu ziemlich reinen Leimpeptonen gelangt sind, so konnte C. Paal bei seinen Versuchen mit Ammoniak, Kalilauge, Baryumhydroxyd und Calciumcarbonat reine freie Peptone aus ihren Chlorhydraten zu gewinnen, keine befriedigenden Resultate erzielen. Besonders waren die erhaltenen Präparate alle stark aschehaltig und zeigten noch einen beträchtlichen Chlorgehalt. Ausserdem ist die Methode, wenn man zu einigermassen reinen Substanzen gelangen will, mit erheblichen Verlusten verknüpft. Nur mit vieler Mühe unter Anwendung der Dialyse ist es ihm gelungen, zu reinem säurefreiem Pepton zu gelangen, allerdings mit einer Ausbeute von blos 30 %. Diesen Übelstand beklagten Kühne, Chittenden und Neumeister auch bei ihren Versuchen, die freien Peptone zu isolieren.

Paal hat eine Methode gefunden, welche sowohl absolut halogenfreie Peptone gewinnen lässt als auch eine quantitative Ausbeute des Verfahrens gestattet. Dieselbe gründet sich auf die Umsetzung zwischen Peptonhalogen und Silbersulfat. Es war natürlich sehr naheliegend, dass ich, nachdem eine exacte Trennung der Salze in Propepton- und eigentliches Peptonsalz nach dem oben beschriebenen Verfahren erreicht war, aus den Salzen der eigentlichen Peptone mit Hilfe dieser Methode die freien eigentlichen Peptone darzustellen suchte.

Etwas mehr als die berechnete Menge Silbersulfat wurde in einer Reibschale mit wenig Wasser unter Umreiben aufgeschwemmt und in die wässerige Lösung der angewandten Menge Peptonsalz eingetragen. Dann wurde auf dem Wasserbade erhitzt bis in der Lösung Silber nachweisbar war. Die Umsetzung verläuft quantitativ zu Peptonsulfat und Halogensilber. Von letzterem wird abfiltriert, die geringe Menge des gelösten Silbersulfats durch Einleiten von Schwefelwasserstoff als

Schwefelsilber gefällt, das durch Filtrieren beseitigt wird. Aus dem Filtrat wird durch Erhitzen auf dem Wasserbade der Schwefelwasserstoff verjagt, und die durch Bindung von Silbersulfat zu Silbersulfid frei gewordene, sowie die an das Pepton gebundene Schwefelsäure durch vorsichtigen Zusatz von reinem Barythydrat quantitativ ausgefällt, sodass schliesslich eine Probe der Lösung sowohl auf Zusatz von Schwefelsäure als auch von Barythydrat vollkommen klar bleibt. Von dem niedergeschlagenen Baryumsulfat wird abfiltriert, die infolge der Ausfällungsproben oft sehr voluminös gewordene Lösnng zuerst in einer Porzellan-, dann in einer Platinschale auf dem Wasserbade bis zur schwachsyrupösen Consistenz eingeengt und nun in reichlich viel abs. Alkohol eingetragen. War die Concentration zu stark, so fällt das Pepton als gelbliche, harzige Masse aus. Dagegen wird es als weisser feinflockiger Niederschlag erhalten, wenn man die dünnsyrupöse Lösung unter beständigem Umschütteln vorsichtig in ganz kleinen Mengen nach und nach in den Alkohol eintropfen lässt. Der Niederschlag wird auf dem Filter rasch abgesaugt, und einige Stunden lang im Schwefelsäurexsiccator unter Evacuation getrocknet. Das freie Pepton stellt dann ein weisses, bröckeliges Pulver dar, weniger hygroskopisch wie die Salze und vollständig frei von Halogen- und Schwefelsäure.

Zur Darstellung wurde benutzt:

1) Ungetrennt HBr-Salz Nr. III.
Angew. 10 gr; Ausbeute: 7 gr fr. Pepton.

2) Eigentl. HBr-Salz Nr. III.
Angew. 5 gr; Ausbeute: 3.5 gr.

3) Eigentl. HJ-Salz Nr. I.
Angew. 6 gr; Ausbeute: 4 gr.

Die auf diesem Wege dargestellten freien Glutinpeptone lösen sich in jedem Verhältnis und leicht in Wasser, wenig schwieriger in geschmolzenem Phenol. In Alkohol und Äther sind sie vollkommen unlöslich. Sie zeigen alle eine intensive Biuretreaction und reagieren auf Lakmus deutlich sauer. Nur das ungetrennte freie Pepton aus HBr-Salz Nr. III zeigte eine sehr schwach saure Reaction. Nach mehrmonatlichem Stehen zeigte das aus dem eigentlichen HBr-Salz Nr. III dargestellte freie Pepton beim Übersättigen mit Ammonsulfat eine nur leichte Trübung, während das aus HJ-Salz Nr. I dargestellte freie eigentliche Pepton vollkommen klar blieb. Die Zusammensetzung der Peptone ergibt sich aus folgenden Analysen:

1) Ungetr. Pepton (aus HBr-Salz III.)

0.6832 gr Subst. gaben 0.0078 gr = 1.14% Asche.

0.1480 gr Subst. gaben 0.2624 gr CO_2 und 0.1086 H^2O.

0.3802 gab bei 738 mm Hg, t = 19° C v = 58 ccm = 0.0647048 N.

2) Eigentl. Pepton (aus HBr-Salz III.)

0.5146 gr Subst. gaben 0.0055 gr = 1.06% Asche.

0.2290 gr Subst. gab bei 740 mm Hg, t = 20° C, v = 35.0 ccm = 0.0389655 N.

a. 0.1300 gr Subst. gab 0.2238 CO_2 u. 0.0840 gr H_2O.

b. 0.1210 gr Subst. gab 0.2076 gr CO_2 u. 0.0774 H_2O.

3) Eigentl. Pepton (aus HJ-Salz Nr. I.)

0.5576 gr Subst. gaben 0.0036 gr = 0.64%.

0.1532 gr Subst. gab 0.2718 CO_2 u. 0.1044 H_2O.

0.1582 gr Subst. gab bei 740 mm Hg, t = 20° C, v = 24.0 ccm = 0.0267252 N.

In procentischer Übersicht:

	1.	2.		3.
		a)	b)	
C	48.88	47.46	47.29	48.67
H	8.24	7.29	7.19	7,61
N	17.21	17.24		17.25

Auch aus diesen Daten ergibt sich für die eigentlichen freien Peptone dem Glutin gegenüber ein höherer Wasserstoff- und niederer Kohlenstoffgehalt, was, wie Paal schon s. Z. betont hat, „mit der Auffassuug derselben als durch Hydratation entstandener Spaltungsproducte desselben durchaus im Einklang steht.“ Besonders in die Augen springend und für eine vorliegende Esterification der Peptonsalze beweisend ist die Differenz der analytischen Werte zwischen eigentlichem HJ-Salz I und dem aus ihm gewonnenen freien Pepton. Es hat hier unleugbar durch Verseifung mit Ätzbaryt eine Abspaltung des Alkohols stattgefunden.

Versuche zur Moleculargewichtsbestimmung der Glutinpeptonsalze und der freien Glutinpeptone.

Der moleculare Bau und die Constitutionsformel der Proteïne und ihrer Derivate haben für den Chemiker und Physiologen von jeher den Reiz, aber auch das Dunkel des saïtischen Bildes besessen. Zwar hat es an diesbezüglichen Hypothesen nie gefehlt; allein sie standen und fielen alle mit ihren Urhebern und es hat heute noch den Anschein, als ob die Wahrheit hierüber für absehbare Zeit ein sprödes Geheimnis bleiben wolle.

Man hat vielfach Metallsalze der Proteïne darzustellen und aus diesen Verbindungen die Moleculargrösse derselben zu berechnen versucht. Diese Art der Berechnung hat unter den Eiweisschemikern auch seit

langer Zeit als Zankapfel figuriert. So stellte z. B. Lieberkühn[1]) für das Eiweiss die Formel auf:

$$C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S$$

Harnack[2]) dagegen behauptete auf Grund der Analysen seiner Eiweisskupfersalze, dass den Proteïnen die Formel:

$$C_{204}H_{322}N_{52}O_{66}S_2 \text{ zukomme,}$$

und Schützenberger[3]) vindicierte dem Eiweiss die empirische Constitution; $C_{240}H_{392}N_{65}O_{75}S_3$.

In neuester Zeit hat O. Loew[4]), der Anhänger der Polymerisationstheorie ist, Silberverbindungen des Eiweiss dargestellt, aus denen er die Formeln ableitet:

$$(C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22})_3 + Ag - H$$
$$(C_{72}H_{112}N_{18}SO_{22})_3 + 2\,Ag - 2\,H.$$

Es ist dies, wie man sieht, die alte Lieberkühnsche Formel, die jedoch, nach Loew, verdreifacht werden müsse, indem sie so die procentische Zusammensetzung des Peptons angebe. Eiweiss wäre also das Trimere des Peptons. Loew stellte ausserdem auch die Hypothese auf, dass Eiweiss ein Condensationsproduct des Asparaginsäurealdehyds sei und es ist in der That auffallend, dass Schützenberger[5]) bei seinen Versuchen Eiweiss mit $Ba(OH)_2$ zu zerlegen, einen Körper fand, den er Leuceïn nannte und auf den die Formel stimmt:

$$\begin{array}{lll} C_4H_7NO_2 = & CH(NH_2) & - COH \\ & | & \\ & CH_2 & \text{——} \; COH. \end{array}$$

Schützenberger[6]) hat ausserdem bei seinen Untersuchungen über Gelatine aus den Werten der Zer-

---

[1]) Poggend. Annal. Bd. 86, 1852.

[2]) E. Harnack, Untersuch. über die Cu-verbindungen des Albumins. Ztschr. f. phys. Chemie V.

[3]) Bulletin d. la Soc. chim. t 23 et 24.

[4]) Pflügers Arch. 31, Berl Ber. 19 Ref. 50.

[5]) Compt. rend. 101.

[6]) Compt. rend. 102 Berlin. Berichte 19, Ref. 30.

setzungsproducte für das Glutin folgende Gleichung aufgestellt: Gelatine = Osseïn =

$$C_2O_2(NH_2)_2 + \begin{cases} C_9H_{10}N_2O_5 \\ C_{10}H_{20}N_2O_5 \end{cases} +$$

$$\begin{cases} 2\,C_3H_7NO_2 \\ 2\,C_4H_9NO_2 \end{cases} - 6\,H_2O = C_{35}H_{62}N_{10}O_{14}$$

während Curtius und Buchner bei ihren Zersetzungsversuchen mit Gelatine zu folgendem Schluss kamen: Wollte man annehmen, dass der Gelatine, wie dem Eiweiss ein Aldehyd zu Grunde läge, so wäre in Berücksichtigung der erhaltenen Daten an einen solchen mit dreigliedriger Kohlenstoffkette und zwar an das Amidoacroleïn ($CH—[NH_2] = CH—CHO$) zu denken.

Diese Vermutungen sind jedoch jetzt schon wieder mehr oder minder verlassen und man neigt sich heute mehr der Annahme zu, in den Eiweisskörpern und ihren Derivaten ein Gemisch höherer Amidosäuren in sehr complicierter Molecularverbindung zu erblicken.

Seitdem man nun im Stande ist, mit Hilfe der Siedemethode und der kryoskopischen Methode von Raoult auch das Moleculargewicht nicht unzersetzt vergasbarer Verbindungen zu bestimmen, war die Möglichkeit gegeben, der Constitutionsfrage der Proteïne wieder näher zu treten. Paal war der erste, der beide Methoden zu Versuchen an seinen Glutinpeptonchlorhydraten und den daraus dargestellten freien Basen benützte. Im Anschluss hieran haben seitdem verschiedene Autoren Bestimmungen an Proteïnen, an den Verwandten und Derivaten versucht, wie Sabanejew, Ciamician, Zanetti, H. Schrötter etc.

Ich versuchte nun auch von den bei mir dargestellten Peptonsalzen und fr. Peptonen die Moleculargrösse zu ermitteln und kam mittelst der Raoultschen Methode zu folgenden Resultaten:

1) Eigentl. Peptonjodid Nr. I.

H_2O; C = 19.

Lösungsm.	Subst.	Depr.	M.-G.	$^1/_2$M.-G.	fr. Pept.
I. 30.7014 g	0.6034 g	0.26	286	143	158
II. 30.7014 „	1.3668 „	0.52	324	162	196

2) Propepton-Jodid Nr. I.

I. 23.96 g	0.402 g	0.13	490	245	362
II. 23.96 „	0.743 „	0.22	534	267	406

3) Ungetr. fr. Pepton (aus HBr-Salz III.)

H_2O

Lösungsm.	Subst.	Depress.	$^1/_2$M.-G.	M.-G.	fr. Pept.
I. 21.23 g	0.2608 g	0.08			292
II. 21.23 „	0.5670 „	0.16			314

4) Freies eigentl. Pepton (aus HJ-Salz I.)

I. 22.19 g	0.434 g	0.15			247
II. 22.19 „	1.0316 „	0.34			259.

Da Wasser als Lösungsmittel angewendet wurde, so ergaben sich für die Salze immer nur die halben Moleculargewichte. Es folgt auch hieraus, dass in den Peptonsalzen immer ein Molecül Pepton an ein Molecül Säure gebunden ist.

Beim Rückblick auf vorliegende Untersuchungen lassen sich deren Ergebnisse dahin präcisieren, dass sich die brom- und jodwasserstoffsauren Salze der Glutinpeptone in ihrer Entstehung und in ihren Eigenschaften den von C. Paal beschriebenen salzsauren Salzen durchaus analog verhalten. Sie liegen zunächst als ein Gemisch von Salzen der Glutosen und Glutinpeptone vor, lassen sich aber durch Ammonsulfat leicht, ja leichter wie die freien Basen in ihre beiden Componenten zerlegen. Die Überführung der getrennten Salze in ihre freien Peptone macht bei An-

wendung von Silbersulfat ebensowenig Schwierigkeiten, wie bei den ungetrennten. Ihr Säurebindungsvermögen wächst mit fortschreitender Hydratation, ihre Löslichkeit in den homologen Alkoholen mit zunehmendem Säuregehalt. Ihr Moleculargewicht sinkt mit steigendem Säuregehalt.

Ich heisse die Gelegenheit willkommen, auch an dieser Stelle dem Gefühle aufrichtigster Dankbarkeit gegen meinen hochverehrten Lehrer, Herrn Prof. Dr. C. Paal, lebhaftesten Ausdruck verleihen zu können sowohl für das Vertrauen bei Übertragung der Arbeit als auch für die liebenswürdige Beratung während der Ausführung derselben. Ausserdem habe ich noch gegen Herrn Dr. W. Schiling für die stets geübte freundliche Unterstützung, sowie gegen Herrn Prof. Dr. J. Rosenthal für die Übernahme des Referates mich meiner Dankespflicht zu entledigen.